Aus dem Röntgeninstitut der Universität Bern
Direktor: Prof. Dr. Ad. Liechti

Veränderungen der Topik des Kaliums und Calciums im histologischen Bilde von Leber und Niere bei ganz bestrahlten Kaninchen

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Würde eines Doctor medicinae
der Universität Bern

vorgelegt von

Norbert Preminger
Wien

Buchdruckerei W. Friedli, Aarbergergasse 42, Bern
1940

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern gewidmet

Auf Antrag des Herrn Prof. Dr. med. Ad. Liechti von der medizinischen Fakultät der Universität Bern zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 24. Juli 1940.

Der Dekan der Medizinischen Fakultät:
Prof. Dr. J. Klaesi

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547625_0080

Einleitung

Es ist anzunehmen, dass alle die mannigfaltigen Wirkungen der Röntgenstrahlen am biologischen Objekt auf gewisse physikalische oder chemische oder physikalisch-chemische Reaktionen dieser Strahlenart zurückgehen oder doch wenigstens irgendwie mit solchen gekoppelt sind. Dafür sprechen fast alle Einzeluntersuchungen seit der frühesten Zeit. Wir wollen kurz auf die Möglichkeiten eingehen.

Ueber den Mechanismus der biologischen Röntgenstrahlenwirkung bestehen verschiedene Theorien die alle die Befunde von Experimentén und klinischen Beobachtungen berücksichtigen wollen. Es kann jedenfalls eine Strahlung im tierischen oder pflanzlichen Gewebe nur dann wirken, wenn wenigstens ein Teil derselben in der Materie aufgenommen wird. Diese Absorption, bezw. die dabei erfolgenden Mechanismen sind gleichsam ersten Akt der Wirkung, d. h. als physikalischen Primärvorgang zu bewerten. Bei der Aufnahme von kurzwelligen Strahlen in einem (belebten oder unbelebten) Körper steht bekanntlich die Emission von Elektronen insofern im Vordergrund, als diese sekundäre Elektronenstrahlung das eigentlich biologisch wirksame Agens darstellt. Erfolgt diese Elektronen-Emission in einem im Bezuge auf die Röntgenbestrahlung inerten System, dann geschieht nichts besonderes; es wird lediglich die Temperatur des Körpers, meist sogar unmerklich, erhöht. Es gibt aber anderseits reaktionsfähige Systeme, die auf eingestrahlte Röntgenenergie qualifizierter zu reagieren imstande sind. So zum Beispiel die photographische Schicht oder die E d e r ' sche Lösung oder eine Sperrschicht usw. Auch ein Teil biologischer Objekte zeigen strahlenspezifische Reaktionen. Man kennt z. B. die zerstörende Wirkung auf Ovar und Testikel, ferner auf lymphatisches Gewebe und auf eine Reihe pathologischer Gewebe.

Es ist nun Sache der Strahlenforschung festzustellen, auf welche Weise die Elektronen mit der biologischen Materie in Beziehung treten, d. h. wir müssen den biologischen Primäreffekt suchen. Der biologische Primäreffekt ist von verschiedenen Faktoren der Zelle abhängig. Alle Folgen dieser ersten Wirkung, die die ganze Zelle betreffen und sich vielleicht schon zellphysiologisch oder morphologisch erfassen lassen, sind Sekundärwirkungen am Orte der Strahlenabsorption.

Der veränderten Zellfunktion entspricht auch ein geänderter Stoffwechsel, der seinen Ausdruck in der Veränderung, des Milieus, d. h. des Gewebsaftes und des Blutes findet; diese letzten Veränderungen sind unter dem Begriffe der sekundären humoralen Strahlenwirkung zusammengefasst. Sie können sowohl eine Reaktion in dem betreffenden Gebiete bewirken, als auch eine Rückwirkung auf andere Organe ausüben.

Am Berner Röntgeninstitut wird angenommen, dass die Zellmembran eine besondere Rolle spielt. Man glaubt, dass durch ihre Ladung — nicht durch ihre Geschwindigkeit — die Elektronen einen Einfluss auf die Ladung der Membrane bezw. der Kolloide stattfindet. Durch eine Ladungsänderung kann dann eine Aenderung der Ionenpermeabilität stattfinden. L i e c h t i (1, 2, 3) glaubt deshalb an eine Permeabilitätstheorie des biologischen Primärvorganges. Reaktionsveränderungen im Blute sowie im röntgenbestrahlten

Gewebe, Beobachtungen an Phantomen bioelektrischer Spannungen, der Haemolysenversuch von Holthusen, ferner und neuerdings auch der Haemolysenversuch von Burgener und Kalbermatten, ebenso wie viele klinische Beobachtungen, sprechen für diese Annahme.

Bei der grossen allgemein-physiologischen Bedeutung der Kalium und Kalziumionen liegt es nahe, anzunehmen .dass auch die Befunde Liebers über die Kalium und Kalzium-Verschiebung der bestrahlten Haut mit einer Permeabilitätsveränderung von Ionen im Zusammenhange stehen. Lieber konnte nachweisen, dass die verschiedenen Lagerungen von Kalium und Kalzium in der Epidermis und in den Haarbälgen, unter Einfluss der Röntgenstrahlen eine Aenderung erfahren. Diese Tatsachen sind am hiesigen Röntgeninstitut von Koch (4) nachgeprüft und bestätigt worden.

Im weitern konnte Winz zeigen, dass Bindegewebszellen eine überaus geringe Radiosensibilität besitzen, andererseits aber die Gefässe in ihrer Gesamtheit sehr leicht geschädigt werden. Diese Schädigung ist ebenfalls eine Permeabilitätsänderung. Beim Hinzukommen irgendeiner Noxe kann die primäre Gefässchädigung zu einem indurativen Oedem führen. Es kann auch eine latente Wirkung auf das scheinbar gesunde Gewebe zurückbleiben.

Und endlich äussert sich die Wirkung der Röntgenstrahlen auf den Stoffwechsel überlebender Gewebe in einer Herabsetzung der Atmung bei gleichzeitiger Erhöhung der Glykolyse. Auch diese Ergebnisse können mittels einer Permeabilitätstheorie erklärt werden.

Wir kommen zurück auf die Veränderungen des Mineralstoffwechsels. Die Hauptrichtung der Forschung hatte anfangs nur die chemische Analyse und die physikalisch-chemischen Untersuchungen zum Gegenstand. Während die im Gewebe abgelagerten Mineralsalze und ihre topographische Anordnung erst durch Arbeiten von Schultze und Zschau eine weitere Klärung erfuhren. Meltzer und Kühtz wählten zur Bestimmung der Mineralsubstanzen die Methode der Gewebsveraschung.

Es lag nun nahe die von Lieber gezeigten Resultate bei weiteren Organen nachzuprüfen und nachzuforschen, ob irgendwelche Kalium- und Kalzium-Verschiebungen zustandekämen. Die unter Einwirkung von Röntgenganzbestrahlungen hervorgerufenen Kalium- und Kalziumveränderungen in der Leber und Niere und ihr histochemischer Nachweis waren Gegenstand der folgenden Untersuchungen am Tier.

Methode

Zum Nachweis von Kalium und Kalzium in Leber und Niere wurde die von Hamburger überprüfte und verbesserte Macallum'sche Methode angewendet.

Die Schnitte wurden auf dem Gefriermikrotom mit gekühltem Messer hergestellt und hatten eine Dicke von 10 bis 15 Mikra.

a) **Kalium.** Es bildet mit Kobalt-Natrium-Hexanitrit, Na2 (NO2)6, einen organe-gelblichen Niederschlag eines komplexen Salzes von der Form Co (NO2)3 - 3 (K/Na) NO2 - nH2O. Diese Reaktion geht auch im Schnitt quantitativ vor sich, wenn die Einwirkung des Kobaltreagens über 30 Minuten erfolgte. Das überschüssige Reagens wird durch 6-maliges Waschen mit eiskaltem Wasser entfernt. Durch die weitere Behandlung der Schnitte mit Schwefelammonium-Glyzerin bildet sich schwarzes und in Wasser unlösliches Kobaltsulfid, Co S. Nach den Angaben Hamburger's ist dieser mikroskopische Nachweis des Kalium sehr empfindlich, indem Verdünnungen bis 1 : 250 000 noch nachweislich sind.

Die Darstellung der Topik des Kalium ist einwandfrei. Na Cl, Co C12, Co SO4 Mg Cl2 und Mg SO4 reagieren mit dem Kobaltreagens nicht. Verwechslungen mit andern Niederschlägen sind nicht möglich. Hamburger hat auch gezeigt, dass alles im Gewebe vorhandene K nachgewiesen wird.

Herstellung des Kobaltreagens.

I. 50 gr. kristallisiertes Kobaltnitrit wird in 100 ccm destilliertes Wasser gelöst und diese Lösung wird sodann mit 25 ccm Eisessig versetzt. Hievon nimmt man 6 Volumteile.

II. 50 gr. NaNo2 (Kaliumfrei) werden in 100 ccm destilliertem Wasser gelöst. Hievon nimmt man 10 Volumteile.

b) **Kalzium.** Die wie oben gewonnenen Schnitte werden für 20 Minuten in 2 %igen Schwefelsäure-Alkohol verbracht, wobei alles Kalzium, d. h. sowohl das ionisierte, als auch das an Eiweiss gebundene Kalzium, in Kalziumsulfat, Ca SO4 überführt wird. Die Löslichkeit des Ca SO4 in absolutem Alkohol ist äusserst gering. Es erfolgt dann gründliches Waschen in absolutem Alkohol um sämtliche überschüssige H2 SO4 zu entfernen. Nun wird in einem Bad von Bleiacetat das Ca SO4 quantitativ in Pb SO4 umgesetzt. Bei dieser Manipulation würden auch allfällig anwesende Phosphate als Bleiphosphat ausfallen. Deshalb werden die Schnitte in n/10 Salpetersäure behandelt, wobei das Phosphat unter Zersetzung in Lösung geht, wogegen das Sulfat unverändert bleibt. Endlich wird durch Zugabe einer kleinen Menge des Schwefelammon-Glyzerin-Gemisches das Pb SO4 in unlösliches Bleisulfid, Pb S, übergeführt.

Als Versuchstier wurde das Kaninchen verwendet. Vier Tiere erhielten je 13 mal täglich 500 r als Totalbestrahlung, und zwar im Abstand von ca. 54 cm, 200 kV bei 8 mA Röhrenstrom, Filter 1,0 mm Cu. C.G.R-Aussenanode betrieben mit Tension Constante von Gaiffe.

Nach 14 Tagen wurde das Tier getötet und Leber und Niere untersucht. Ein viertes Tier wurde auf die gleiche Weise behandelt wie oben. Jedoch wurden eine Reihe von Gefrierschnitten mit Haemalaun-Eosin gefärbt. Ausserdem wurde der Kalium- und Kalziumgehalt des Blutes vor den Bestrahlungen und am Ende der Behandlung bestimmt.

Die Verteilung von Kalium und Kalzium in der normalen Leber und Niere

Die Verteilung von Kalium und Kalzium in der normalen Leber und Niere.

Schulze und Zschau (5) haben eingehende experimentelle Studien bezüglich der topographischen Verteilung von Kalium und Kalzium im Gewebe gemacht.

Diese Autoren stellen vorerst die Eigentümlichkeiten verschiedener tierischer Gewebe und Zellarten in ihrer Kalium und Kalziumverteilung fest. Allgemein kann über die Zelle gesagt werden, dass die Kaliumreaktion im Zellkern besonders stark positiv ist, während der Zelleib die stärkere Kalziumlagerung aufweist.

Bezüglich des Verhaltens der Kalium-Kalzium-Verteilung in Niere und Leber gesunder Tiere seien die Darlegungen der erwähnten Autoren angeführt.

Schulze und Zschau fanden grosse Unterschiede in der K/Ca-Verteilung im Nieren-Epithel der einzelnen Kanälchenabschnitte, ohne sie restlos gedeutet zu haben. Im Kaliumpraeparat fanden sie eine stärkere Reaktion im Kern als im Plasma. Ferner stellten sie fest, dass die Tubuli contorti erster Ordnung und die Bowmann'sche Membran besonders stark kalium-positiv sei, im Gegensatz zu den Henle'schen Schleifen und den Tubuli contorti zweiter Ordnung. Diese Tatsachen fanden wir auch bei unserem Vorversuch mit einem nicht bestrahlten Kaninchen, voll bestätigt. Dies sei nach Ansicht von Schulze und Zschau auf die besondere Rückresorptionsfähigkeit — auch für Elektrolyte — zurückzuführen. Ferner spricht oft die stärkere Anfärbung der Haargefässe dem reichlichen Kaliumgehalt der roten Blutkörperchen.

Im Kalziumpraeparat fällt die Ca-Reaktion überall in der tunica propria der Harnkanälchen stark positiv aus. Ferner ist das Kalzium überall als Grenzschicht nachzuweisen, so zwischen den Epithelzelleibern, der einzelnen Harnkanälchenabschnitte und an der Oberfläche dieser Epithelien, nach der Lichtung der Harnkanälchen zu, und im Innern der Zellen um den Kern herum.

Im Leberpraeparat finden Schulze und Zschau den zu erwartenden positiven Ausfall der Kalium-Reaktion im Kern und ein zartmaschiges kalium-positives Netzwerk der Zelleiber.

Im Kalziumpraeparat der Leber sind die Kernräume als helle Lücken, besonders auf den Nucleus ausgespart. Die Zelleiber enthalten kalzium-positive Granula, die sich dicht an der Zelloberfläche und unmittelbar um den Kern herum befinden.

Resultate

1. Niere.

Histologie: Es erscheint mir zweckmässig vor den endgültigen Schlussfolgerungen auf die histologische Struktur der Niere und ihrer Zytoarchitektur einzugehen.

Bekanntlich trifft man an der Niere eine Unterscheidung von Rinde-Markstrahl und Marksubstanz. Entsprechend dieser Einteilung ergeben sich dann die morphologisch-histologischen Unterschiede einerseits, die entsprechenden funktionell-physiologischen Unterschiede andererseits. Das Kanälchensystem beginnt mit dem Glomerulus, dem Kapillarenwundernetz. Der Glomerulus ist von der Bowmann'schen Kapsel umgeben, diese hat ein viscerales und parietales Blatt. Aus ihr geht der Tubulus contortus erster Ordnung hervor. Die Epithelien desselben sind hoch, besitzen an ihrer Basis eine Stäbchenstruktur (die Stäbchen sind Mitochondrien), an ihrer freien Oberfläche tragen sie einen Bürstenbesatz. Dieser gewundené Teil (Pars convoluta) geht in einen geraden Teil (Pars recta) über. Daraus geht dann der dünne absteigende Schenkel der Henle'schen Schleife hervor; Dieser Abschnitt ist durch sein niedriges Epithel gekennzeichnet. Sodann biegt der dünne Schenkel in den dicken aufsteigenden Schenkel um, an welchen man einen unteren trüben und einen helleren oberen Abschnitt unterscheiden kann. Der helle Abschnitt, auch Verbindungsstück genannt, legt sich an den Glomerulus an und geht dann in ein stark gewundenes Kanälchen über, den Tubulus contortus zweiter Ordnung, gezeichnet durch sein helles Epithel. Schliesslich geht der Tubulus contortus in ein Sammelröhrchen über. Die Sammelröhrchen vereinigen sich zu grossen Sammelröhren, die schliesslich als ductus papillaris an der Spitze der Papillen einmünden. Die Sammelröhrchen haben ein hohes Zylinderepithel.

Funktionell könnte man an der Niere folgende Einteilung treffen: a) das Nierenfilter, durch die Glomeruli dargestellt, b) den Sekretionsabschnitt, ausgeführt durch Tubuli contorti und trüben Schenkel, c) den Resorptionsabschnitt, durch den absteigenden Schenkel der Henle'schen Schleife und Sammelröhrchen, d) den Exkretionsabschnitt, durch die grossen Sammelröhren.

Es sei noch erwähnt, dass die Glomeruli in der Rindenregion lokalisiert sind, die Henle'sche Schleife und Sammelröhrchen verschiedener Grössenordnung im Markstrahl und in der Marksubstanz. Die verschiedene Morphologie der einzelnen Abschnitte, bezw. der einzelnen Zellen, wie auch ihre verschiedene funktionelle Beanspruchung bringt es mit sich, dass das färberische Bild kein Einheitliches sein kann. Es sei mir gestattet, hiebei noch die schwierige Technik und Darstellung der Praeparate zu erwähnen, das auch von Schulze und Zschau vorgebracht wurde.

Das Kalium der Niere des bestrahlten Kaninchens.

Beim Nierenrindenschnitt der Kaliumfärbung haben wir folgendes mikroskopische Bild angetroffen: die Glomeruli erscheinen tiefbraun gefärbt, eine Auflösung in feinere Strukturen ist nicht möglich. Diese starke Verfärbung ist lediglich durch den kapillaren Erythrozytenreichtum bedingt.

Die Tubuli contorti erster und zweiter Ordnung erscheinen etwas verfärbt. Dies betrifft den Kern und nur ganz geringfügig das Plasma; das dem Kalium analoge Fällungsprodukt erscheint gegenüber dem normalen Praeparat mässig vermehrt. Im Gebiet der Marksubstanz erscheinen die Zellkerne der Sammelröhrchen etwas kaliumreicher. Dünner und dicker Schenkel konnten infolge der schwierigen Technik nicht sicher differenziert werden.

Der geschilderte Befund spricht für eine Kaliumvermehrung mässigen Grades. Gegen den Einwand, es könnte sich lediglich um eine Hyperaemie handeln, sei Folgendes entgegengehalten. 1. Glomeruli (mit und ohne Hyperaemie) zählen bei unseren Folgerungen nicht mit. 2. Es erscheinen die Tubuli contorti bereits im Normalpraeparat gegenüber den andern Kanälchen als kaliumreicher. Jedoch erscheinen die Tubuli contorti stärker verfärbt als bei Normalpraeparat. Gleichfalls besteht eine gewisse Kontrastierung der anderen Harnkanälchen zu den Analogen des unbestrahlten Kaninchens.

Das Kalzium der Niere des bestrahlten Kaninchens.

Das Kalzium ist, entsprechend seiner Lagerung an den Basalmembranen als Grenzschicht zu betrachten. Während das Kalzium im Normalpraeparat mehr linear vorhanden ist, sieht man hier an den Tubuli contorti erster Ordnung und Sammelröhrchen — stellenweise — im Bereiche des Plasmas und an den Zellgrenzen eine mehr flächenhaftere Kalziumfällung, was auf eine Kalziumvermehrung hindeutet.

Die folgenden Abbildungen geben Belege für das Gesagte.

Nierenschnitte.

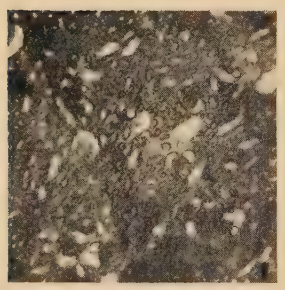

Abb. 1 Rindenschnitt. Kaliumfärbung des unbestrahten Kaninchens

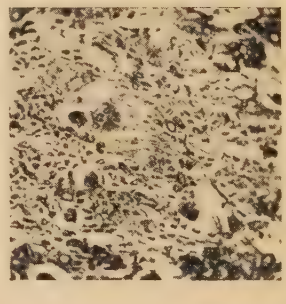

Abb. 2 Rindenschnitt. Kaliumfärbung deh bestrahlten Kaninchens

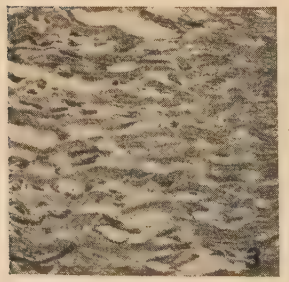

Abb. 3 Markschnitt. Kaliumfärbung des unbestrahlten Kaninchens

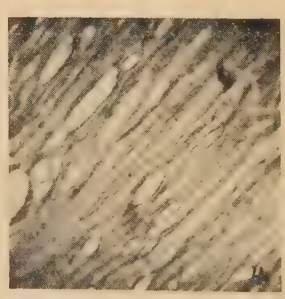

Abb. 4 Markschnitt. Kaliumfärbung des bestrahlten Kaninchens

Nierenschnitte.

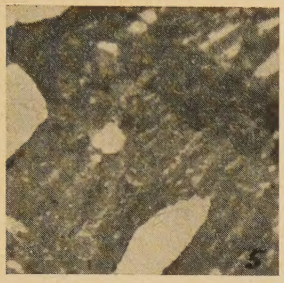

Abb. 5 Rindenschnitt. Kalziumfärbung des unbestrahlten Kaninchens

Abb. 6 Rindenschnitt. Kalziumfärbung des bestrahlten Kaninchens

Das Kalium der Leber des bestrahlten Kaninchens.

Das durch die Fällung zur Darstellung gelangte Kalium findet sich auch hier in und um den Leberzellkern, aber in wahrscheinlich geringerem Masse als im Normalpraeparat. Zwar findet sich reichlich Kalium im Kapillargebiet, aber dieser Anteil des Kalium kann ohne weiteres vom Zellkalium unterschieden werden. Allgemein gesprochen erscheint das mikoskopische Bild gegenüber dem Normalen etwas abgeblasst.

Das Kalzium der Leber des bestrahlten Kaninchens.

Beim Normalpraeparat sieht man an der Peripherie der Leberzelle die dem Kalzium entsprechende Fällung in Form von Schüppchen; an der Grenze zwischen Leberzellbalken und Kapillaren findet man positive Kalziumreaktion. Beim bestrahlten Kaninchen sind die Kalzium-Schüppchen in den Leberzellen seltener, was etwa auf eine geringfügige Kalziumverminderung hindeutet.

Dem Kaninchen Nr. 4 wurde vor dem Bestrahlungsbeginn vor der Tötung Ohrvenenblut zur Bestimmung des K- und Ca-Gehaltes entnommen. Herr Prof. Abelin, der die Blutanalysen in freundlicher Weise durchführte, fand folgende Zahlen.:

	Kalzium	Kalium
8. Juli 1940	8,65 mg %	26,50 mg %
18. Juli 1940	13,33 mg %	22,33 mg %
normal	8—12 (—16) mg %	19—22 mg %

Jede Zahl entspricht einer Doppelanalyse des Ohrvenenblutes. Zwischen 8. und 18. Juli fanden die Ganzbestrahlungen statt. Die gegenläufige Veränderung der K- und Ca-Werte ist von Interesse und soll weiter verfolgt werden.

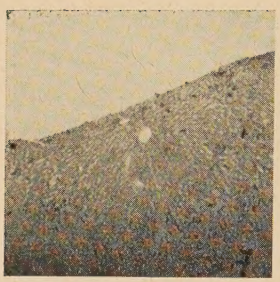

Abb. 7 Leberkalium
des unbestrahlten Kaninchens

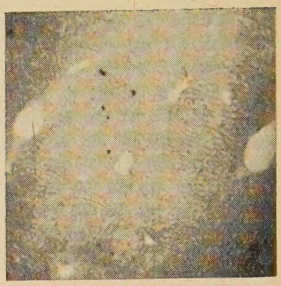

Abb. 8 Leberkalium
des bestrahlten Kaninchens

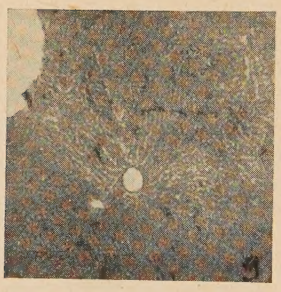

Abb. 9 Leberkalzium
des unbestrahlten Kaninchens

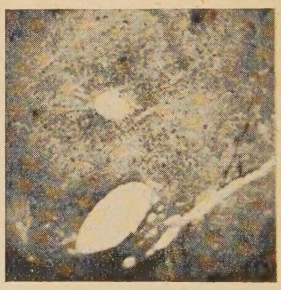

Abb. 10 Leberkalzium
des bestrahlten Kaninchens

Zusammenfassung

Mittels der Macallum'schen Methode zur histochemischen Darstellung von Kalium und Kalzium wurde die K- und Ca-Verteilung in Niere und Leber des Kaninchens nach Ganzbestrahlungen mit Röntgenstrahlen untersucht und es ist folgendes gefunden worden: Das Kalium ist nach der Bestrahlung in der Niere deutlich vermehrt. In geringerem Masse gilt dasselbe für das Nieren-Kalzium. In der Leber konnten sichere Effekte weder für das Kalium noch für das Kalzium festgestellt werden.

Literatur-Verzeichnis

1. **Liechti A.:** Ueber die Bedeutung der ß-Strahlen, Acta radiologica (1926), Vol. V. S. 385.

2. **Liechti A.:** Biochemische Zeitschrift (1926), Kap. 171, S. 240.

3. **Liechti A.:** Röntgenphysik Julius Springer, Wien 1940.

4. **Koch:** Diss. Bern 1940.

5. **Schulze und Zschau:** Topographische Verteilung von Ca. und K im Gewebe. Frankfurter Zeitschrift für Path. 48. Bd., Heft 1, 1932.

6. **Macallum:** Erg. Physiol. 7 (1908).

7. **Tschopp:** Die Lokalisationen anorganischer Substanzen im Gewebe.

8. **Lieber G. D.:** Strahlentherapie Bd. 29 (1928).

9. **Lieber G. D.:** Strahlentherapie Bd. 18

10. **Meltzer H. und E. H. Kühtz:** Strahlentherapie Bd. 62 (1938).